

Souris transgéniques et modèles du diabète

Le diabète insulino-dépendant de type I est un désordre métabolique résultant de l'absence de sécrétion endogène d'insuline [1]. Des mécanismes auto-immuns semblent impliqués dans l'étiopathogénie de ce type de diabète aussi bien chez l'homme [2] que dans les modèles animaux que constituent les souris NOD (*non-obese diabetic*) et les rats BB. Les arguments en faveur de ces mécanismes sont l'apparition d'une auto-immunité cellulaire et humorale caractérisée par une infiltration leucocytaire des îlots du pancréas et une production d'auto-anticorps dirigés contre les cellules β . La façon

dont procède le système immunitaire pour distinguer le soi du non-soi, et pour maintenir un état de tolérance à l'égard des antigènes du soi, n'est pas complètement comprise mais l'on sait qu'il fait intervenir les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH: H2 chez la souris, HLA chez l'homme) (voir lexique *m/s* n° 4, vol. 4, p. 118). L'intervention du locus H2-I (*figure 1*) dans la prédisposition au diabète caractéristique de la lignée de souris NOD vient, grâce à la technologie des souris transgéniques* (*note et figure 2, p. 445*), d'être démontrée [3]. Des études

génétiques avaient permis d'affirmer que la susceptibilité au diabète est sous le contrôle d'au moins trois gènes dont l'un, localisé sur le chromosome 17, est étroitement lié au locus H2-K [4]. L'on savait par ailleurs que les souris NOD n'expriment pas l'antigène I-E. Des croisements effectués entre des souris NOD et des souris transgéniques C57BL/6 exprimant E α permettent d'obtenir des souris NOD E α + chez lesquelles aucune autre modification du chromosome 17 n'a été introduite. Ainsi le fait que ces souris ne développent pas de diabète peut être expliqué par l'expression des molécules I-E dont

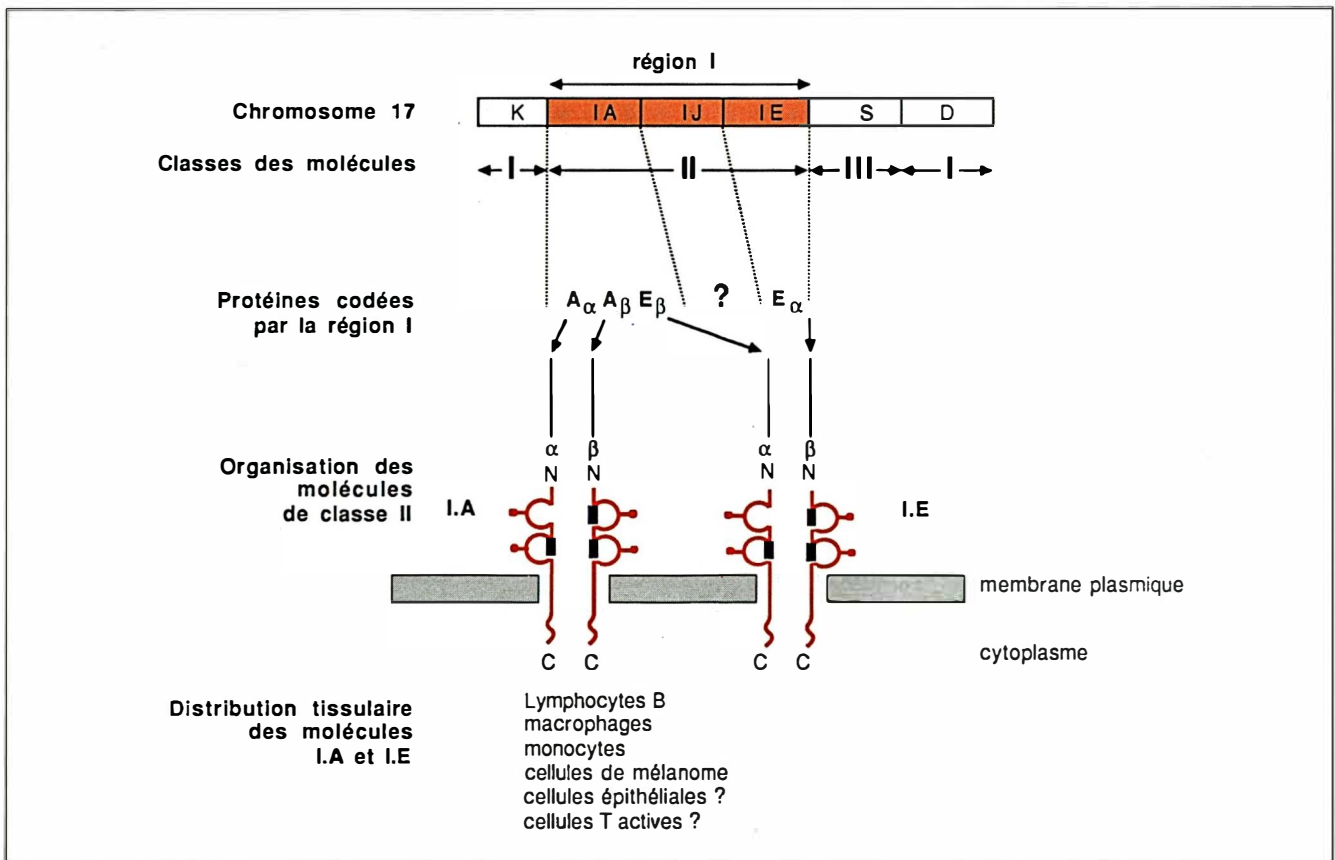


Figure 1. Le complexe H-2 de la souris. - : pont disulfure ; • : sucre (CHO).

dans la réponse immunitaire aux polymères synthétiques vient par ailleurs d'être clairement démontrée [5-7]. Les conséquences de l'expression des molécules I-E chez les souris NOD permettent de proposer divers mécanismes pour expliquer leur rôle éventuel dans la mise en place d'une tolérance immunitaire: (1) elles pourraient induire la production de cellules suppressives qui bloqueraient le développement d'une réaction auto-immune vis-à-vis des cellules β ; (2) elles pourraient présenter des épitopes identiques à des antigènes présents à la surface de la cellule β . La tolérance vis-à-vis de ces antigènes serait acquise via celle développée précocement vis-à-vis des molécules I-E. L'absence de molécule I-E chez les souris NOD et une expression de l'antigène spécifique des cellules β , postérieure aux possibilités d'acquisition d'une tolérance immunitaire, serait à l'origine du processus auto-immun. Il faut noter que seules les cellules β semblent touchées par cette réaction. Ce serait donc la conjonction d'un antigène spécifique du pancréas et d'une absence de molécules I-E qui provoquerait la non-tolérance vis-à-vis de cet antigène du soi. A l'inverse, dans le modèle des rats diabétiques BB comme dans les diabètes auto-immuns humains, il n'y a pas défaut mais expression anormalement localisée dans le pancréas, de molécules de classe I et de classe II. Existe-t-il une relation de cause à effet entre l'expression des molécules du CMH

dans les cellules β du pancréas et l'apparition du diabète auto-immun caractérisé par l'infiltration lymphocytaire? En d'autres termes est-ce l'expression aberrante de molécules du CMH et la présentation d'antigènes de la cellule β qui, stimulant des cellules T spécifiques, entraîne l'in-

filtration lymphocytaire ou bien l'infiltration précède-t-elle l'apparition des molécules du CMH? Trois groupes ont très récemment choisi la technologie des souris transgéniques pour résoudre ce problème. Différentes molécules de classe I (H-2K^b) ou de classe II (I-E^b et I-A^d) [8-11]

* La technique des souris transgéniques fut présentée dans un numéro précédent de médecine/science par C. Babinet [14]. Elle permet d'obtenir des animaux qui possèdent, en plus du matériel héréditaire qui leur est propre, un gène supplémentaire ou « transgène » qui a été, le plus souvent par micro-injection dans l'œuf fécondé, ajouté à leur patrimoine héréditaire. Comme il est possible de construire des séquences chimériques composées d'un promoteur A, capable de diriger l'expression d'un gène dans le tissu A, couplées à une séquence codant pour une protéine B, l'on peut obtenir des animaux transgéniques exprimant spécifiquement la protéine B dans le tissu A. Un nouveau caractère héréditaire est ainsi conféré à la descendance de l'animal transgénique.

m/s n° 7 vol. 4, septembre 88

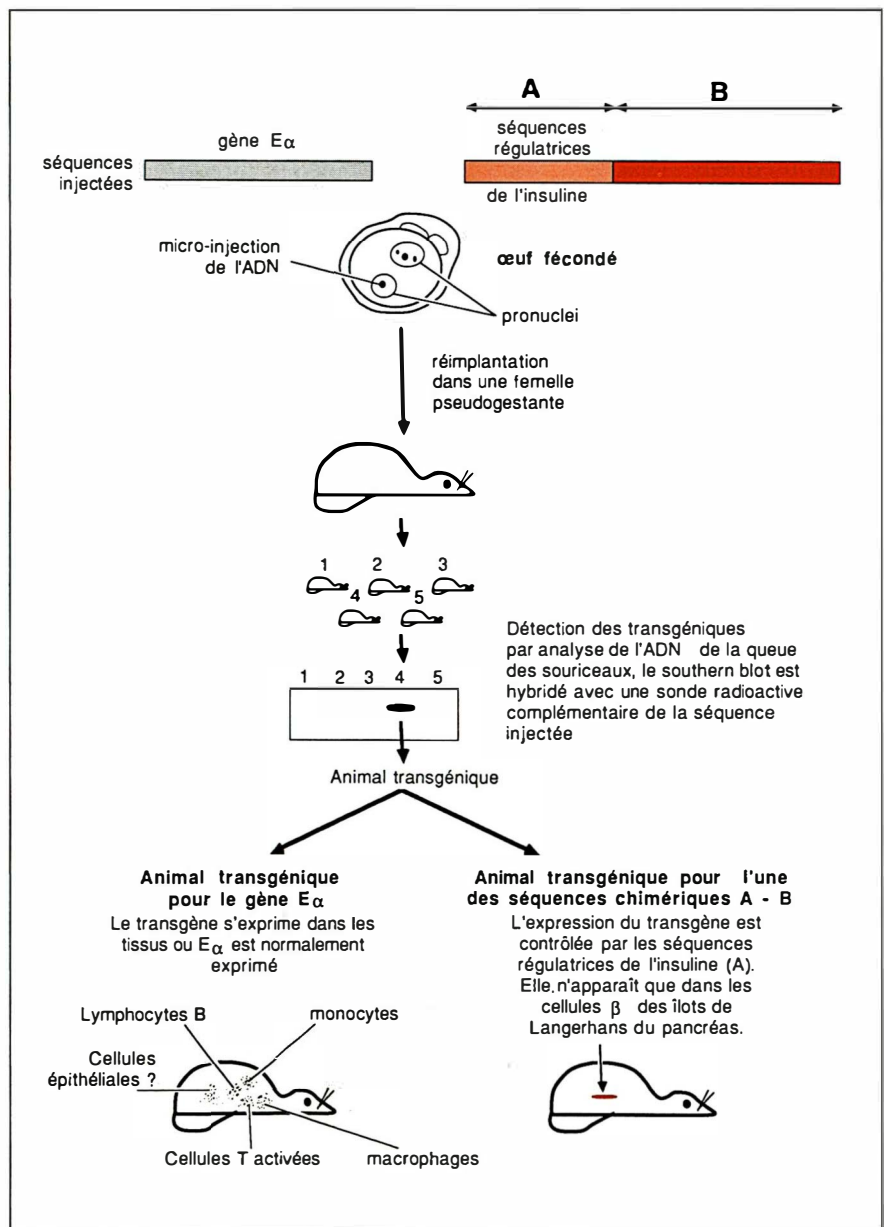


Figure 2. La technologie des souris transgéniques. Micro-injection de gènes (E α) ou de séquences chimériques (séquences régulatrices d'un gène A — l'insuline dans les cas décrits — couplées au gène B-T de SV40, I-A, I-E ou H-2k.

furent placées sous le contrôle du promoteur de l'insuline et micro-injectées dans des embryons de souris. Une très forte expression de ces molécules fut obtenue dans les cellules β du pancréas et comme l'attendaient les auteurs un diabète se développa chez les animaux transgéniques. Ces modèles n'ont cependant pas les caractéristiques escomptées. En effet, si à des degrés divers les cellules β dégénérent, aucun élément permettant de rattacher cette dégénérescence à un mécanisme auto-immun n'est observé. En particulier, il n'y a pas d'infiltration lymphocytaire du pancréas. De plus une tolérance immunitaire vis-à-vis des molécules H2 et I-E est rapportée. Par conséquent, l'expression aberrante des molécules du CMH dans les cellules β semble à elle seule suffisante pour induire un diabète dont le mécanisme ne met pas en jeu les cellules T. La tolérance vis-à-vis des molécules codées par les transgènes pourrait résulter d'une expression précoce au cours du développement qui les fait considérer comme des protéines de soi. A l'appui de cette hypothèse il faut citer le résultat récent obtenu par Adams *et al.* [12]. Des lignées de souris transgéniques exprimant l'antigène T de SV 40 dans les cellules β des îlots de Langerhans ont été obtenues par micro-injection du gène T mis sous contrôle des séquences régulatrices du gène de l'insuline. L'antigène T est naturellement considéré, dans la plupart de ces lignées, comme une protéine de soi et n'induit par conséquent aucune réaction immunitaire. De façon tout à fait inattendue, les auteurs virent apparaître dans l'une de leurs lignées transgéniques, des anticorps anti-T circulant. Ils démontrèrent que, chez ces animaux, pour une raison non élucidée, l'expression de T était retardée par rapport à celle observée chez les animaux transgéniques sans anticorps anti-T. On peut donc suspecter que ce simple retard dans l'apparition d'un antigène à la surface d'une cellule entraîne l'absence d'établissement d'une tolérance immunologique à son égard. Dans le diabète juvénile insulino-dépendant, des auto-anticorps reconnaissent un

antigène présent à la surface des cellules β . Il est possible, conformément à l'expérience précédemment décrite, qu'une expression retardée de cette protéine, au-delà de la période permettant le développement de la tolérance immunologique, soit à l'origine de l'atteinte auto-immune. Cependant, dans la plupart des cas, les molécules codées par les transgènes n'induisent pas de réaction auto-immune et l'apparition du diabète chez les animaux portant les transgènes I-A^d, I-E^b et H-2K^b doit avoir une autre origine. Il faut à ce stade noter que les productions aberrantes des molécules I-E^b, I-A^d et H-2K^b dans le pancréas, si elles entraînent toutes un diabète, n'ont pas les mêmes conséquences histologiques. Dans le premier cas, le pancréas est intact alors que dans les deux derniers le nombre d'îlots est à divers degrés réduit. Dans tous les cas la production d'insuline est diminuée. L'hypothèse la plus probable pour expliquer cette diminution est qu'il existe une interaction entre les molécules du CMH et les mécanismes de synthèse, maturation ou sécrétion de l'insuline. Cela peut impliquer une compétition quant à l'utilisation des protéines et autres composants nécessaires à ces opérations ou une interaction directe entre l'insuline et les molécules du CMH. On peut faire par exemple l'hypothèse que la pré-pro-insuline se fixe au niveau du sillon des molécules du CMH dont le rôle est de présenter les fragments peptidiques de l'antigène [13]. Cette interaction pourrait perturber le repliement de la molécule dans le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi ou bien encore inhiber la protéase qui libère le peptide C. La destruction progressive des cellules β pourrait résulter d'une destruction due à l'accumulation de peptides dérivés de l'insuline non excrétée.

Un autre modèle de souris diabétique a été obtenu par micro-injection d'une séquence codant pour l'interféron γ (IFN), placée sous le contrôle du promoteur de l'insuline [10], l'objectif étant d'induire une expression des molécules de classe II équivalente à celle que l'on observe après certaines infections virales. Dans ce cas

un diabète se développe avec une réaction inflammatoire importante dont l'origine peut être rapprochée de la réaction auto-immune décrite par Adams *et al.* [12]. Les molécules du CMH induites par l'IFN pourraient dans ce cas être produites plus tardivement que dans les modèles précédents (peut être du fait de l'expression tardive dans l'ontogénèse des récepteurs de l'IFN), ou bien l'interféron pourrait induire la synthèse d'un peptide qui serait présenté à la surface des cellules β par les molécules de classe II, elles-mêmes induites par l'IFN. Ainsi les souris transgéniques IFN constituent, outre un modèle de diabète, un modèle de l'inflammation créée par l'interféron permettant de comprendre la cascade des réactions induites par la production locale de cette substance.

En conclusion, les modèles obtenus ne sont pas d'exactes copies phénotypiques des diabètes humains insulino-dépendants. Ils permettent d'éliminer l'hypothèse selon laquelle l'expression dans les cellules β des molécules de classe II puisse, quel que soit le stade ontogénique où elle se produit, déclencher une réaction auto-immune. En revanche, ils mettent en évidence leur intervention directe dans la perturbation de la production d'insuline et probablement leur rôle dans la réaction auto-immune lorsque leur expression est tardive ou lorsque leur présence autorise la présentation de peptides produits tardivement au cours de l'ontogénèse.

Pascale Briand

RÉFÉRENCES

1. Eisenbarth GS. Type I diabetes mellitus: a chronic autoimmune disease. *N Engl J Med* 1986; 314: 1360-8.
2. Gepts W, Lecompte PM. The pathology of type I (juvenile) diabetes. In: Volk BW, Arguilla ER, *The Diabetic Pancreas*. New York: Plenum, 1985.
3. Nishimoto H, Kikutani H, Yamasura K, Kishimoto T. Prevention of autoimmune insulinitis by expression of I-E molecules in NOD mice. *Nature* 1987; 432-4.

m/s n° 7 vol. 4, septembre 88

RÉFÉRENCES

4. Prochazka M, Leiter EH, Serreze DV, Coleman DL. Three recessive loci required for insulin-dependent diabetes in non obese diabetic mice. *Science* 1987 ; 237 : 286-8.
5. Le Meur M, Gerlinger P, Benoist C, Mathis D. Correcting an immune response deficiency by creating E α gene transgenic mice. *Nature* 1985 ; 316 : 38-42.
6. Yamamura KI, Kikutani H, Folsom V, et al. Functional expression of a microinjected E α gene in C57BL/6 transgenic mice. *Nature* 1985 ; 316 : 67-9.
7. Pinkert CA, Widera G, Cowing C, et al. Tissue-specific, inducible and functional expression of the E α MHC class II gene in transgenic mice. *EMBO J* 1985 ; 4 : 2225-30.
8. Allison J, Campbell IL, Morahan C, Mandel TE, Harrison CL, Miller JF. Diabetes in transgenic mice resulting from over-expression of class I histocompatibility molecules in pancreatic B cells. *Nature* 1988 ; 333 : 529-33.
9. Lo D, Burkly LC, Widera G, et al. Diabetes and tolerance in transgenic mice expressing class II MHC molecules in pancreatic B cells. *Cell* 1988 ; 53 : 159-68.
10. Sarvetnick N, Liggitt D, Pitts SL, Hansen SE, Stewart TA. Insulin-dependent diabetes mellitus induced in transgenic mice by ectopic expression of class II MHC and interferon-gamma. *Cell* 1988 ; 52 : 773-82.
11. Parham P. Intolerable secretion in tolerant transgenic mice. *Nature* 1988 ; 333 : 500-3.
12. Adams TE, Alpert S, Hanahan D. Non-tolerance and autoantibodies to a transgenic self antigen expressed in pancreatic β cells. *Nature* 1987 ; 325 : 223-8.
13. Kahn A. La troisième dimension pour les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité : un cristal de HLA-A2. *médecine/sciences* 1988 ; 4 : 52-4.
14. Babinet C, Morello D. Animaux transgéniques : une voie nouvelle pour l'étude du développement. *médecine/sciences* 1986 ; 2 : 253-9.

Erratum : sur la couverture du n° 4, vol. 4 de m/s (avril 1988), il fallait lire Julian E. Davies (Institut Pasteur Fondation) et non pas Institut Pasteur Production.

■■■ Le système nerveux central trouve une dimension temporelle à son inhibition. Les paramètres temporels représentent un véritable casse-tête pour les neurobiologistes. Voilà des systèmes de transmission synaptique qui semblent tous fonctionner en quelques millisecondes... mais qui subissent des altérations qui durent des heures, voire des jours lorsqu'on utilise certaines drogues. Au niveau de la synapse le temps de liaison entre les endorphines et les récepteurs opiacés se compte, par exemple, en millisecondes, alors que l'effet de la morphine — dont on suppose qu'elle agit au niveau des mêmes sites de réception — dure plusieurs heures. La solution de ce paradoxe est, sans doute, en train de se faire jour grâce aux études portant sur le système nerveux central très simple de mollusques, les Aplysies. Il est possible, chez ces mollusques, d'étudier spécifiquement le transfert d'informations dans une voie réflexe monosynaptique précisément caractérisée. On peut ainsi démontrer les altérations de la transmission au niveau d'une seule synapse, altérations induites, par exemple, en injectant à proximité de la fente synaptique des neurotransmetteurs en quantité physiologique. L'équipe de E.R. Kandel a ainsi mis en évidence plusieurs aspects de la transmission synaptique. Le dernier en date est une inhibition synaptique de longue durée [1]. Cette dépression de l'activité d'un neurone, qui peut durer jusqu'à 24 heures, a la particularité d'être produite par l'application répétée d'un peptide, la FMRFamide (cinq fois en deux heures) alors que l'application unique du même peptide ne produit qu'une inhibition de courte durée (c'est-à-dire de quelques dizaines de millisecondes). L'inhibition de longue durée est bloquée lorsque la synthèse protéique est inhibée et dépend donc manifestement de l'induction d'une expression génétique, alors que l'inhibition de courte durée en est indépendante. Il n'est certes pas aisé d'appliquer directement les résultats obtenus chez l'Aplysie à l'homme, mais on a retrouvé chez les mammifères bien

des caractéristiques de la transmission synaptique, mises en évidence primitivement chez les mollusques, notamment la « facilitation synaptique de longue durée ». Il y a donc fort à parier que « l'inhibition synaptique de longue durée » sera bientôt mise en évidence elle-aussi. [1. Montarolo PG, et al. *Nature* 1988 ; 333 : 171-4.]

■■■ Les virus du SIDA HIV-1 et HIV-2 ne dérivent probablement pas de retrovirus simiens. La séquence de trois rétrovirus simiens apparentés aux HIV a été analysée à ce jour [1, 2] chez le singe vert d'Afrique (SIVagm), le *Macacus rhesus* (SIVmac) et le mandrill (SIVmnd). SIVmac pose un problème difficile : détecté dans des élevages américains possédant des primates d'origine asiatique, il n'a jamais été retrouvé chez des singes vivant en liberté en Asie. Son génome est étrangement similaire à celui du virus humain HIV-2 qui semble exclusivement d'origine africaine. Une contamination de laboratoire semble donc, à ce jour, plus probable que la filiation entre un virus de singe asiatique et des malades de l'Ouest africain. Les virus SIVagm et SIVmnd, non pathogènes, ont eux été trouvés chez des singes vivant en liberté. Ils sont aussi éloignés l'un de l'autre que des HIV, alors même qu'ils sont présents dans les mêmes régions que HIV-1 et HIV-2. Ils ne sont donc probablement pas à l'origine de l'infection humaine et semblent d'ailleurs avoir une stricte spécificité pour les singes. Il se pourrait qu'en fait HIV/SIV ait infecté des primates depuis très longtemps... peut-être même l'ancêtre commun des primates du vieux monde. Différents types de ce virus auraient alors évolué parallèlement à leur espèce hôte. [1. Mulder C, *Nature* 1988 ; 333 : 396.] [2. Fukasawa, et al. *Nature* 1988, 333 : 457-61.]